

角质形成细胞的机械应力传导通路研究进展

有无基金项目，写明基金名称及基金编码
作者姓名，作者单位（地址，邮政编码）
第一作者姓名及邮箱
通讯作者姓名及邮箱

在体组织受到不同类型的机械应力，如周期性应力（快速的，心脏和血管）、剪切力（液体流，内皮细胞）、牵拉力或拉力（皮肤）、膨胀扩张（慢性膨胀，膀胱）和压缩力（骨和软骨）。生理作用下机械应力会影响不同组织的增殖、分化、细胞形态和迁移，如骨成熟需要接受机械应力的作用[1]。但并非所有细胞对机械应力均敏感，且并非所有敏感细胞对机械应力感受的通路均一致[2]。研究表明，表皮组织受到外源性或来自周围细胞增殖、分化或迁移[3]形成的内源性机械应力刺激，为了维持表皮的功能完整性，表皮组织在机械应力改变时会发生一系列调整。对于皮肤组织中不同类型细胞是如何感受、传导机械应力，并将机械应力转化为生物化学反应，导致细胞增殖和皮肤变厚尚未明确。本文就角质形成细胞机械应力感受和传导的分子及信号通路作一综述，为下一步研究提供参考。

1. 机械应力感受机制

机械应力传导是指物理性机械应力传导至细胞并转化为生物分子反应的机制，此过程第一步是机械应力刺激的感受。

1.1 机械应力敏感通道

细胞中对机械应力敏感的离子通道能将物理信号转化为离子流[4]。对于角质形成细胞，Ca²⁺通道是机械应力反应中的重要通道之一[5]。当机械应力作用于角质形成细胞后，可直接改变细胞构象，使离子通道开放，Ca²⁺流入并介导磷脂酶 C 和蛋白激酶 C 的活化，将细胞质中的蛋白激酶 C α 和 δ 转移至细胞膜[6]。而抑制磷脂酶 C 可以阻断机械应力作用下 Ca²⁺的反应。

有研究表明，某些高度保守的瞬时受体电位通道与不同压力反应有关。如角质形成细胞中的瞬时受体电位 V3 通道和 V4 通道，这两个通道对热刺激、低渗肿胀和剪切力均敏感[7-8]。连接蛋白半通道是细胞膜上机械应力敏感通道的另一种形式，它对调节细胞溶质中 Ca²⁺浓度具有重要作用[9-10]。研究表明，通过改变细胞外 Ca²⁺浓度可调节体内表皮中和体外培养的角质形成细胞的增殖和分化[11]。而决定细胞内、外 Ca²⁺浓度的 Ca²⁺通道机械阀门对调节角质形成细胞的增殖和分化体系是否有关键作用，Ca²⁺的动员是否激发了机械应力作用信号的中心通路——Ras 和促分裂素原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)通路，还有待进一步研究。

1.2 生长因子介导的机械应力感受

细胞膜上的受体也参与了机械应力感受，并在细胞质中将机械应力物理刺激转化为信号通路的刺激，PDGF 是发挥此作用的重要生长因子之一[12]。机械应力作用下生长因子受体活化可经过反式激活发生，无需结合相应受体，如角质形成细胞中的 EGF 受体[13-14]。

1.3 蛋白形变介导的机械应力感受

许多机械应力感受蛋白，即一些重复的结构序列，在机械应力作用下会发生构象变化；包括细胞外基质组分、细胞内蛋白（如黏着斑复合体）、连接跨膜蛋白（如整合素）和细胞骨架之间的蛋白。这些蛋白通过形变来调节酶的活性，促使新的分子相互反应或释放可能激活细胞通路的连接因子[15-17]。研究发现[18-19]，这些机械应力感受蛋白在机械作用下会暴露结构域并磷酸化。Sawada 等[20]对人类胚胎肾脏细胞系进行机械牵拉后，发现 Src 家族激酶

通讯作者： Email:

底物 p130Cas 的酪氨酸磷酸化增加。其发生机制为机械牵拉力作用于黏着斑复合体——黏附 p130Cas, p130Cas 可能由肌动蛋白细胞骨架产生, 并延伸到分子中间底物结构域, 后者暴露了包含酪氨酸的基序。而磷酸化的 p130Cas 又反过来参与小三磷酸鸟苷酶 Rap1 的机械应力依赖性活化[21]。Sawada 等[20]认为该机制是感受不同级别牵拉力和细胞定位的简单方法, 可能成为传导细胞牵拉力的普遍机制, 并将其命名为“底物启动”。

有研究表明, 锚蛋白重复序列可能直接参与了机械牵拉力作用下的蛋白形变[22]。瞬时受体电位通路包含 C 结尾的锚蛋白重复序列, 但这些序列在通路激活时是否发挥作用尚未明确。Ortiz 等[23]对机械应力作用下膜收缩蛋白重复结构域的展开进行了详细分析, 认为膜收缩蛋白重复结构域是某个庞大蛋白家族中的一员, 这个家族还有 α -辅肌动蛋白和 spectraplakine 家族的细胞骨架连接分子。对于角质形成细胞的机械应力感受机制是否涉及这些基序尚不清楚, 需要进一步研究明确。

此外, 在机械应力作用下细胞外基质蛋白纤维连接蛋白会暴露隐藏的结合位点[24-26], 固定的纤维连接蛋白也暴露了自身重组位点, 导致细胞间基质重组[27]。特异性的整合素可能感知了细胞间基质强度的增加, 并将其传导至细胞质。因此, 整合素是细胞外基质蛋白如纤维连接蛋白感受外界机械应力的细胞受体。

2. 机械应力的应用方法

目前, 检测和实验性量化机械应力对角质形成细胞作用的方法较少。有研究通过将单向、双向或放射性拉力实施于细胞贴附的可形变硅胶膜上, 由形变的硅胶膜将机械应力传导给贴附的细胞; 如 Flexcell 细胞牵拉系统是采用电脑控制真空负压产生机械应力。机械应力可是固定性静态的, 也可是频率和持续时间不等的周期性动态的。一般实验实施的最大牵拉度为 20%, 相当于 1 000 个微牵拉得到 0.1% 的长度变化[28]。在细胞牵拉培养实验中, 单向牵拉和放射牵拉对细胞的作用不同, 体现在两方面, 一是机械应力对肌动蛋白纤维的作用, 二是细胞在机械应力作用后方向的改变[29-30]。

目前, 角质形成细胞的机械应力实验多用砝码对实验装置实施压应力, 感受到压应力后, 细胞中 c-Src、蛋白激酶 C 和 p38 MAPK 活化, 且这些通路的活化在实施压应力 5~10 min 后达到高峰[31]。有研究表明, 4 d 的周期性压应力 (0.015 N/cm²) 会导致细胞增殖下降和细胞分化加快[32]。然而对于皮肤组织, 大量的压应力不能完全反映其受到的正常生理和病理状态, 皮肤受到的机械应力以牵拉力为主。机械牵拉力刺激细胞产生的信号通路与机械压应力也不一样, 尚待观察。手掌的角质形成细胞表达一种特殊结构——角蛋白, 最后形成有特殊特性的中间丝[33], 这种角蛋白-中间丝复合物在机械力传导方面的作用亦尚未明确。

原子力显微镜和光镊可用于牵拉分子, 并测量其形变和单个分子的黏附力[34]。近来, 有研究联合应用原子力显微镜和光镊观察机械应力活化 c-Src 促进脐静脉内皮细胞整合素聚集的作用[35], 尚未见用于角质形成细胞的研究报道。目前研究机械应力对角质形成细胞的作用采用的载体以硅胶膜为主, 属于二维方法。但体内组织细胞生长环境是三维空间, 有研究发现成纤维细胞在二维和三维培养中呈现不同的细胞骨架特性[36]。因此, 有待开发更符合生理特性的体外机械应力模拟装置进行实验研究。

3. 机械应力传导机制

目前, 研究已成功建立角质形成细胞体外机械应力作用体系。与其他细胞类似, 角质形成细胞整合了不同信号级联反应, 如细胞外基质、细胞膜上的生长因子受体和细胞骨架[37]。细胞的终末反应是研究较多的信号传导通路, 但机械应力传导及最后导致机械应力刺激转为生物化学信号的完整通路却不完全清楚。目前研究主要围绕以下三方面进行。

3.1 细胞黏附介导的信号通路

研究表明,整合素在机械应力感受和传导中具有重要作用[38]。它是细胞外基质蛋白的主要受体,位于细胞焦点接触,连接细胞外基质和肌动蛋白细胞骨架,并调节部分信号通路[39-40]。因此,它处于传递信息的中间位置,并将机械应力刺激转化为生物化学反应。在角质形成细胞中即存在机械信号的转化。有研究显示机械应力作用下,在角质形成细胞中可观察到整合素聚集形成[14],以及 c-Src 和黏着斑激酶(focal adhesions kinase, FAK)的活化,可促进 MAPK 活化[41-42]。但角质形成细胞中整合素 $\beta 1$ 在 MAPK 信号通路上的具体作用还有待进一步研究。整合素介导的机械应力传导是一个动态的整合素-配体相互反应[38, 43-44]。在角质形成细胞体外实验中,培养皿以 IV 型胶原或纤维连接蛋白铺底时,整合素 $\beta 1$ 聚集明显;而以层粘连蛋白铺底时,整合素 $\beta 1$ 聚集无增加。说明在黏着位点的整合素 $\beta 1$ 聚集需要与特异性配体结合。

焦点接触也可用于机械应力感受[45]。在内皮细胞中,机械应力感受复合体的黏附分子和受体酪氨酸激酶在流体剪切力作用下作出反应[46]。肌动蛋白应力纤维连接至局部,纤维黏附并组成一个网络,是机械应力作用的发起者和感受者[47]。

3.2 MAPK 信号通路

角质形成细胞可感受不同的机械应力类型,如持续性应力(身体重量压在脚趾的表皮层)或短暂性应力(邻近细胞分化初始应力)。角质形成细胞会对感受的不同机械应力作出不同反应。但尚不清楚一个细胞如何区别这些不同刺激,以及这些机械应力刺激如何传导并转化为生物化学反应。目前研究了一些普遍存在的信号通路,MAPK 信号通路就是细胞在机械应力下增殖的关键通路。以可调节硅胶器皿对角质形成细胞实施持续牵拉力(如 20%, 24 h),可强烈地刺激细胞增殖和蛋白合成[48-49];此外,细胞形态也会发生变化,呈垂直于机械应力方向排列[50]。这些反应继发于 MAPK 快速激活之后。目前在哺乳动物体内共鉴定出 4 个 MAPK 亚家族,包括 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun aminoterminal kinase, JNK)、细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)、ERK5 以及 p38 MAPK。ERK 通路是迄今研究较透彻的一条 MAPK 信号通路。ERK1/2 是不同类型细胞增殖和存活必不可少的蛋白,它被丝裂原活化蛋白激酶激酶 1/2(mitogen-activated protein kinase kinase 1/2, MEK 1/2)抑制物抑制,可通过持续性牵拉 5 min 后再次激活,但正弦方式的周期性牵拉不能再次激活 ERK1/2,却可激活 p38 MAPK 和 JNK [51]。ERK1/2 的上游活化,依赖酪氨酸 845 和磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphoinositide S-OH kinase, PI3K)的 EGF 受体磷酸化(与 EGF 无关)以及 Ca^{2+} 通道活化,三者对于机械应力介导的细胞增殖必不可少。在角质形成细胞,机械牵拉可激活 1 型血管紧张素 II 受体(angiotensin II type 1 receptor, AT1-R),从而发生 EGF 受体的反式激活[52],然后刺激 PKB/Akt 的活化,此通路在保护细胞抵抗凋亡方面发挥重要作用。但机械应力活化 AT1-R 的机制是受体的构象变化还是其他感受体,如整合素的活化再激活 AT1-R[53],尚待进一步研究。

有研究表明,ERK1/2 的活化对于整合素 $\beta 1$ 的功能也很敏感。单方向延伸度 10%持续 5 min 牵拉可以激活 ERK1/2,增加 HaCaT 角质形成细胞的黏附,提示细胞基底层存在整合素 $\beta 1$ 聚集,EGF 受体也聚集于这些焦点接触部位[14]。ERK1/2 活化对整合素 $\beta 1$ 的功能和 EGF 受体磷酸化的依赖性还需要实验进一步证实,实验可使用整合素中和抗体和 EGF 受体酪氨酸激酶的特异性抑制物 AG1478。EGF 受体磷酸化和 EGF 相互独立,这与整合素 $\beta 1$ 受体的相互活化有关。有研究发现,在 MAPK 的刺激效应和生长因子缺失情况下,整合素或其他因子相互活化可能激活 EGF 受体[54-56]。在高增殖性疾病中也可观察到整合素的相互活化[57],但增殖信号和抗凋亡信号常常同时出现[58]。最近,有研究显示在正常人角质形成细胞和 HaCaT 细胞系中,机械牵拉导致 Akt 激酶的快速活化,此过程依赖 EGF 受体活化,并在 PI3K、MEK1/2 和 Ca^{2+} 通道的抑制物作用下作用减弱[49]。

Yano 等[49]发现角质形成细胞在机械牵拉 4~48 h 下,激活了转录因子激活物蛋白 1,此

过程涉及 ERK1/2。角质形成细胞是 IL-1 的主要来源, IL-1 是皮肤中主要调节剂, 它也能激活激活物蛋白 1。高于 10%的周期性牵拉可促使角质形成细胞 IL-1 α 和 IL-1 β 表达升高[8, 50], 14%的持续牵拉力也可促使角质形成细胞 IL-1 α 表达增加[59]。这些增加可在加入 IL-1 自然抗体时阻断, 而细胞形态的变化(拉长和直线排列)不会消失。研究发现 IL-1 受体、EGF 受体和 PDGF 受体均位于焦点接触位置[60]。

3.3 细胞骨架

细胞骨架也是一种理想的机械感受体和机械传递体。研究细胞整合机械应力的装置是一个张力完整性模型, 它由 Buckminster Fuller 于 1961 年制作, 之后由 Ingber 进一步应用于细胞研究[61-66]。

细胞形状受到机械感受通道的调节, 机械感受通道包括传导外界环境机械应力刺激的细胞外基质-整合素-细胞骨架复合体和酪氨酸激酶[67]。机械应力作用下, 首先整合素发生变化, 之后肌动蛋白细胞骨架发生重组。整合素可能启动长形平行的激动蛋白压力纤维发生形变, 此过程受 c-Src 的调节, Tyr397 的磷酸化促使 c-Src 激活 FAK[68]。Schober 等[69]研究了 FAK-/- 原代角质形成细胞, 发现 FAK 对于调节细胞骨架和涉及细胞迁移和形变的黏着斑动力学具有重要意义。机械应力可能通过细胞骨架传导至细胞核并调节转录, 如细胞核纤层蛋白 C 的突变会导致细胞核形变以及改变应力导致的基因表达[70]。

对于许多细胞的机械应力传导而言, 肌动蛋白细胞骨架发挥重要作用。但对于角质形成细胞, 最重要的细胞骨架系统是角蛋白-中间丝网络。中间丝分布于整个细胞, 靠桥粒相互作用, 连接邻近细胞并使很多细胞作为一个整体形成组织[71]。在表皮分化过程中, 中间丝的角蛋白成分发生变化。角质形成细胞中具有增殖能力的基底层中间丝主要由角蛋白 5(keratin 5, K5)/K14 增长, 而基底上层主要表达 K1/K10 异聚物, 通过电镜观察表皮上层有更厚的纤维素形成[72]。根据张力完整性模型, 使基底上层细胞中间丝的组分 K1/K10 变为 K1/K5/K14, 会改变细胞机械应力作用前状态, 可能对机械应力感受敏感性发生细微调整, 但改变中间丝的数量会造成什么结果目前不清楚。表皮层的角蛋白有特殊功能和特性。如掌跖的表皮在基底上层表达 K9, K9 可能增加机械应力稳定性[33]。在伤口边缘 K6、K16 和 K17 表达短暂, 而 K1 和 K10 表达下调[73]。持续性牵拉作用贴附于弹性硅胶膜上的角质形成细胞, 同样下调 K10 及上调 K6[49]。但是有研究结果与以上研究结果不同, 发现使小鼠皮肤表皮层不表达 K10, 角质形成细胞基底层细胞增殖明显增加, 滤泡间上皮细胞表达 K6, 以及 MAPK 信号通路中 ERK1/2 和 p38 MAPK 激活[74-75]。肌动蛋白细胞骨架在加强机械应力作用下由整合素介导的细胞黏附作用还有待进一步证实[76]。比较正常人和大疱性表皮松解患者的皮肤角质形成细胞发现, 后者在机械牵拉下发生 K14 的变异, 说明角蛋白-中间丝张力在维持桥粒和半桥粒的正常功能上发挥作用[77]。来自桥粒的非耦联中间丝通过使用一种截短的桥粒斑蛋白分子, 降低了细胞间黏附强度[78]。说明中间丝和肌动蛋白在细胞黏附强度上的协同效应非常强大。此外有研究发现了黏着斑对角蛋白中间丝的形成具有重要作用[79]。

3.4 细胞外基质

细胞和细胞外基质之间的关系密不可分, 细胞能通过细胞外基质成分的改变作为对机械应力的反应。基于两者各自需要, 组织会通过调整对外界刺激的敏感性来不断适应外界环境机械应力的变化。在对角质形成细胞的牵拉培养实验中, Turchi 等[39]发现机械应力刺激伤口边缘的基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)表达增加。该刺激涉及到 Rho 家族中小三磷酸鸟苷酶、p38 MAPK 和 JNK 的活化。MMP-9 的底物是其他蛋白酶类, 比如 IV 型胶原、受体酪氨酸激酶、黏着分子、IL-1 和 TGF- β 等基底膜组分, 其通过下调中间物质 Smad3、TGF- β 反过来调节细胞外基质蛋白的聚集以及与整合素的反应。此过程涉及 MMPs 及其抑制物[80]。

细胞对细胞外基质硬度的反应影响到其分化和增殖, 这在对乳腺和其他细胞如成纤维细胞、

成肌细胞和神经细胞的研究中均被证实[81-82]。肿瘤通常比其他组织坚硬，大鼠乳腺肿瘤中机械应力作用下整合素被激活，反过来激活 MAPK 信号通路[83]。机械应力不但影响干细胞增殖，还影响其分化。MSCs 的数量可被可溶解因子和微环境的弹性激活[84-85]。表皮干细胞很少能从毛囊的膨胀部分开，其在培养环境中却表现不一样，增殖速度加快。肿瘤细胞或干细胞对微环境的反应可用于促进伤口愈合、治疗肿瘤和干细胞治疗。

机械感受力依赖细胞黏附和基底的硬度[47, 67]。对于细胞在不同底物上生长的实验显示，细胞外基质的组分影响机械应力诱导的细胞增殖，这些底物包括胶原蛋白、纤维连接蛋白、玻连蛋白、弹性蛋白、层粘连蛋白[86]。Nicolas 等[87]基于机械计算的模型研究显示，黏着斑形成主要依赖细胞外基质的弹性、硬度和厚度。但不同细胞对细胞外基质硬度表现不同[82]。对于表皮，和其他组织类似，可能不同区域的表皮需要不同的硬度特性。此外，极性角质形成细胞需要感受至少两种微环境，因此需要同时具有不同的生物-机械感受特性并整合为一体。对于角质形成细胞不同亚层特性的精确测量目前仅限于角质层[88]，其他亚层细胞还需进一步研究。

4 展望

据 Reichelt[37] 和 Takei 等[89]的总结，现将目前角质形成细胞可能的机械应力信号传导情况总结如图 1 所示，以供参考。角质形成细胞和其他细胞一样，持续感受着它们所处的环境。问题是：它们如何区分不同的机械刺激以及哪些机械感受蛋白参与此过程？角质形成细胞如何整合各种复杂的信息成为一种生理反应来影响伤口愈合、细胞生长、细胞形变、细胞增殖和细胞分化？除了与其他细胞共同的通路外，角质形成细胞或通常所说的表皮细胞是否有特殊的机械应力传导通路？过度增殖相关的皮肤疾病，如银屑病、表皮松解角化过度症是否有机应力感受通路的下调？角质形成细胞之间的机械感受交流以及角质形成细胞与真皮细胞之间机械感受交流是否在这类疾病中发挥作用？如果是，是否存在一个关键蛋白是有效治疗此类疾病的靶点？这些问题均需要进一步实验验证。

此外，机械刺激在体内和体外实验细胞培养不同，既往的机械刺激装置研究多是二维系统，虽然不同细胞和不同的实验系统有相同的机械应力感受通路，但有必要使用和设计一个研究角质形成细胞机械应力传导作用的三维装置。

参考文献

- 1 Turner CH, Owan I, Takano Y. Mechanotransduction in bone: role of strain rate. *Am J Physiol*, 1995, 269(3 Pt 1): E438-442.
- 2 Orr AW, Helmke BP, Blackman BR, et al. Mechanisms of mechanotransduction. *Dev Cell*, 2006, 10(1): 11-20.
- 3 Matsubayashi Y, Ebisuya M, Honjoh S, et al. ERK activation propagates in epithelial cell sheets and regulates their migration during wound healing. *Curr Biol*, 2004, 14(8): 731-735.
- 4 Martinac B. Mechanosensitive ion channels: molecules of mechanotransduction. *J Cell Sci*, 2004, 117(Pt 12): 2449-2460.
- 5 Yano S, Komine M, Fujimoto M, et al. Activation of Akt by mechanical stretching in human epidermal keratinocytes. *Exp Dermatol*, 2006, 15(5): 356-361.
- 6 Takei T, Han O, Ikeda M, et al. Cyclic strain stimulates isoform-specific PKC activation and translocation in cultured human keratinocytes. *J Cell Biochem*, 1997, 67(3): 327-337.
- 7 Moqrich A, Hwang SW, Earley TJ, et al. Impaired thermosensation in mice lacking TRPV3, a heat and camphor sensor in the skin. *Science*, 2005, 307(5714): 1468-1472.

- 8 O'Neil RG, Heller S. The mechanosensitive nature of TRPV channels. *Pflugers Arch*, 2005, 451(1): 193-203.
- 9 Evans WH, De Vuyst E, Leybaert L. The gap junction cellular internet: connexin hemichannels enter the signalling limelight. *Biochem J*, 2006, 397(1): 1-14.
- 10 Jiang JX, Siller-Jackson AJ, Burra S. Roles of gap junctions and hemichannels in bone cell functions and in signal transmission of mechanical stress. *Front Biosci*, 2007, 12: 1450-1462.
- 11 Hennings H, Michael D, Cheng C, et al. Calcium regulation of growth and differentiation of mouse epidermal cells in culture. *Cell*, 1980, 19(1): 245-254.
- 12 Wilson E, Mai Q, Sudhir K, et al. Mechanical strain induces growth of vascular smooth muscle cells via autocrine action of PDGF. *J Cell Biol*, 1993, 123(3): 741-747.
- 13 Zhang B, Peng F, Wu D, et al. Caveolin-1 phosphorylation is required for stretch-induced EGFR and Akt activation in mesangial cells. *Cell Signal*, 2007, 19(8): 1690-1700.
- 14 Knies Y, Bernd A, Kaufmann R, et al. Mechanical stretch induces clustering of beta1-integrins and facilitates adhesion. *Exp Dermatol*, 2006, 15(5): 347-355.
- 15 Vogel V. Mechanotransduction involving multimodular proteins: converting force into biochemical signals. *Annu Rev Biophys Biomol Struct*, 2006, 35: 459-488.
- 16 Kung C. A possible unifying principle for mechanosensation. *Nature*, 2005, 436(7051): 647-654.
- 17 Vogel V, Sheetz M. Local force and geometry sensing regulate cell functions. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7(4): 265-275.
- 18 Katz BZ, Zamir E, Bershadsky A, et al. Physical state of the extracellular matrix regulates the structure and molecular composition of cell-matrix adhesions. *Mol Biol Cell*, 2000, 11(3): 1047-1060.
- 19 Tamada M, Sheetz MP, Sawada Y. Activation of a signaling cascade by cytoskeleton stretch. *Dev Cell*, 2004, 7(5): 709-718.
- 20 Sawada Y, Tamada M, Dubin-Thaler BJ, et al. Force sensing by mechanical extension of the Src family kinase substrate p130Cas. *Cell*, 2006, 127(5): 1015-1026.
- 21 Sawada Y, Nakamura K, Doi K, et al. Rap1 is involved in cell stretching modulation of p38 but not ERK or JNK MAP kinase. *J Cell Sci*, 2001, 114(Pt 6): 1221-1227.
- 22 Lee G, Abdi K, Jiang Y, et al. Nanospring behaviour of ankyrin repeats. *Nature*, 2006, 440(7081): 246-249.
- 23 Ortiz V, Nielsen SO, Klein ML, et al. Unfolding a linker between helical repeats. *J Mol Biol*, 2005, 349(3): 638-647.
- 24 Craig D, Krammer A, Schulten K, et al. Comparison of the early stages of forced unfolding for fibronectin type III modules. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(10): 5590-5595.
- 25 Gao M, Craig D, Vogel V, et al. Identifying unfolding intermediates of FN-III(10) by steered molecular dynamics. *J Mol Biol*, 2002, 323(5): 939-950.
- 26 Geiger B, Bershadsky A. Exploring the neighborhood: adhesion-coupled cell mechanosensors. *Cell*, 2002, 110(2): 139-142.
- 27 Zhong C, Chrzanowska-Wodnicka M, Brown J, et al. Rho-mediated contractility exposes a cryptic site in fibronectin and induces fibronectin matrix assembly. *J Cell Biol*, 1998, 141(2): 539-551.
- 28 Rubin CT, Lanyon LE. Dynamic strain similarity in vertebrates; an alternative to allometric limb bone scaling. *J Theor Biol*, 1984, 107(2): 321-327.

- 29 Shirinsky VP, Antonov AS, Birukov KG, et al. Mechano-chemical control of human endothelium orientation and size. *J Cell Biol*, 1989, 109(1): 331-339.
- 30 Takemasa T, Yamaguchi T, Yamamoto Y, et al. Oblique alignment of stress fibers in cells reduces the mechanical stress in cyclically deforming fields. *Eur J Cell Biol*, 1998, 77(2): 91-99.
- 31 Hofmann M, Zaper J, Bernd A, et al. Mechanical pressure-induced phosphorylation of p38 mitogen-activated protein kinase in epithelial cells via Src and protein kinase C. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 316(3): 673-679.
- 32 Görmar FE, Bernd A, Bereiter-Hahn J, et al. A new model of epidermal differentiation: induction by mechanical stimulation. *Arch Dermatol Res*, 1990, 282(1): 22-32.
- 33 Swensson O, Langbein L, McMillan JR, et al. Specialized keratin expression pattern in human ridged skin as an adaptation to high physical stress. *Br J Dermatol*, 1998, 139(5): 767-775.
- 34 Felsenfeld DP, Schwartzberg PL, Venegas A, et al. Selective regulation of integrin—cytoskeleton interactions by the tyrosine kinase Src. *Nat Cell Biol*, 1999, 1(4): 200-206.
- 35 Wang JH, Thampatty BP, Lin JS, et al. Mechanoregulation of gene expression in fibroblasts. *Gene*, 2007, 391(1-2): 1-15.
- 36 Cukierman E, Pankov R, Stevens DR, et al. Taking cell-matrix adhesions to the third dimension. *Science*, 2001, 294(5547): 1708-1712.
- 37 Reichelt J. Mechanotransduction of keratinocytes in culture and in the epidermis. *Eur J Cell Biol*, 2007, 86(11-12): 807-816.
- 38 Katsumi A, Orr AW, Tzima E, et al. Integrins in mechanotransduction. *J Biol Chem*, 2004, 279(13): 12001-12004.
- 39 Turchi L, Chassot AA, Bourget I, et al. Cross-talk between RhoGTPases and stress activated kinases for matrix metalloproteinase-9 induction in response to keratinocytes injury. *J Invest Dermatol*, 2003, 121(6): 1291-1300.
- 40 Burridge K, Fath K. Focal contacts: transmembrane links between the extracellular matrix and the cytoskeleton. *Bioessays*, 1989, 10(4): 104-108.
- 41 Okuda M, Takahashi M, Suero J, et al. Shear stress stimulation of p130(cas) tyrosine phosphorylation requires calcium-dependent c-Src activation. *J Biol Chem*, 1999, 274(38): 26803-26809.
- 42 Roovers K, Assoian RK. Effects of rho kinase and actin stress fibers on sustained extracellular signal-regulated kinase activity and activation of G(1) phase cyclin-dependent kinases. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(12): 4283-4294.
- 43 Jalali S, del Pozo MA, Chen K, et al. Integrin-mediated mechanotransduction requires its dynamic interaction with specific extracellular matrix (ECM) ligands. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(3): 1042-1046.
- 44 Katsumi A, Naoe T, Matsushita T, et al. Integrin activation and matrix binding mediate cellular responses to mechanical stretch. *J Biol Chem*, 2005, 280(17): 16546-16549.
- 45 Shemesh T, Geiger B, Bershadsky AD, et al. Focal adhesions as mechanosensors: a physical mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(35): 12383-12388.
- 46 Tzima E, Irani-Tehrani M, Kiosses WB, et al. A mechanosensory complex that mediates the endothelial cell response to fluid shear stress. *Nature*, 2005, 437(7057): 426-431.
- 47 Bershadsky AD, Balaban NQ, Geiger B. Adhesion-dependent cell mechanosensitivity. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2003, 19: 677-695.
- 48 Takei T, Rivas-Gotz C, Delling CA, et al. Effect of strain on human keratinocytes in vitro. *J Cell*

Physiol, 1997, 173(1): 64-72.

49 Yano S, Komine M, Fujimoto M, et al. Mechanical stretching in vitro regulates signal transduction pathways and cellular proliferation in human epidermal keratinocytes. *J Invest Dermatol*, 2004, 122(3): 783-790.

50 Takei T, Kito H, Du W, et al. Induction of interleukin (IL)-1 alpha and beta gene expression in human keratinocytes exposed to repetitive strain: their role in strain-induced keratinocyte proliferation and morphological change. *J Cell Biochem*, 1998, 69(2): 95-103.

51 Nguyen HT, Adam RM, Bride SH, et al. Cyclic stretch activates p38 SAPK2-, ErbB2-, and AT1-dependent signaling in bladder smooth muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2000, 279(4): C1155-1167.

52 Kippenberger S, Loitsch S, Guschel M, et al. Mechanical stretch stimulates protein kinase B/Akt phosphorylation in epidermal cells via angiotensin II type 1 receptor and epidermal growth factor receptor. *J Biol Chem*, 2005, 280(4): 3060-3067.

53 Zou Y, Akazawa H, Qin Y, et al. Mechanical stress activates angiotensin II type 1 receptor without the involvement of angiotensin II. *Nat Cell Biol*, 2004, 6(6): 499-506.

54 Cabodi S, Moro L, Bergatto E, et al. Integrin regulation of epidermal growth factor (EGF) receptor and of EGF-dependent responses. *Biochem Soc Trans*, 2004, 32(Pt3): 438-442.

55 Daub H, Weiss FU, Wallasch C, et al. Role of transactivation of the EGF receptor in signalling by G-protein-coupled receptors. *Nature*, 1996, 379(6565): 557-560.

56 Rosette C, Karin M. Ultraviolet light and osmotic stress: activation of the JNK cascade through multiple growth factor and cytokine receptors. *Science*, 1996, 274(5290): 1194-1197.

57 Moro L, Venturino M, Bozzo C, et al. Integrins induce activation of EGF receptor: role in MAP kinase induction and adhesion-dependent cell survival. *EMBO J*, 1998, 17(22): 6622-6632.

58 Stenson WF. Prostaglandins and epithelial response to injury. *Curr Opin Gastroenterol*, 2007, 23(2): 107-110.

59 Lee RT, Briggs WH, Cheng GC, et al. Mechanical deformation promotes secretion of IL-1 alpha and IL-1 receptor antagonist. *J Immunol*, 1997, 159(10): 5084-5088.

60 Morrison DK, Kaplan DR, Escobedo JA, et al. Direct activation of the serine/threonine kinase activity of Raf-1 through tyrosine phosphorylation by the PDGF beta-receptor. *Cell*, 1989, 58(4): 649-657.

61 Ingber DE. Cellular tensegrity: defining new rules of biological design that govern the cytoskeleton. *J Cell Sci*, 1993, 104(Pt3): 613-627.

62 Ingber DE. Tensegrity II. How structural networks influence cellular information processing networks. *J Cell Sci*, 2003, 116(Pt 8): 1397-1408.

63 Ingber DE. Tensegrity I. Cell structure and hierarchical systems biology. *J Cell Sci*, 2003, 116(Pt 7): 1157-1173.

64 Ingber DE. The mechanochemical basis of cell and tissue regulation. *Mech Chem Biosyst*, 2004, 1(1): 53-68.

65 Ingber DE. Cellular mechanotransduction: putting all the pieces together again. *FASEB J*, 2006, 20(7): 811-827.

66 Ingber DE. Mechanical control of tissue morphogenesis during embryological development. *Int J Dev Biol*, 2006, 50(2-3): 255-266.

67 Giannone G, Sheetz MP. Substrate rigidity and force define form through tyrosine phosphatase and kinase pathways. *Trends Cell Biol*, 2006, 16(4): 213-223.

- 68 Butler B, Gao C, Mersich AT, et al. Purified integrin adhesion complexes exhibit actin-polymerization activity. *Curr Biol*, 2006, 16(3): 242-251.
- 69 Schober M, Raghavan S, Nikolova M, et al. Focal adhesion kinase modulates tension signaling to control actin and focal adhesion dynamics. *J Cell Biol*, 2007, 176(5): 667-680.
- 70 Lammerding J, Schulze PC, Takahashi T, et al. Lamin A/C deficiency causes defective nuclear mechanics and mechanotransduction. *J Clin Invest*, 2004, 113(3): 370-378.
- 71 Herrmann H, Bär H, Kreplak L, et al. Intermediate filaments: from cell architecture to nanomechanics. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(7): 562-573.
- 72 Reichelt J, Büsow H, Grund C, et al. Formation of a normal epidermis supported by increased stability of keratins 5 and 14 in keratin 10 null mice. *Mol Biol Cell*, 2001, 12(6): 1557-1568.
- 73 Wong P, Coulombe PA. Loss of keratin 6 (K6) proteins reveals a function for intermediate filaments during wound repair. *J Cell Biol*, 2003, 163(2): 327-337.
- 74 Reichelt J, Magin TM. Hyperproliferation, induction of c-Myc and 14-3-3sigma, but no cell fragility in keratin-10-null mice. *J Cell Sci*, 2002, 115(Pt 13): 2639-2650.
- 75 Reichelt J, Furstenberger G, Magin TM. Loss of keratin 10 leads to mitogen-activated protein kinase (MAPK) activation, increased keratinocyte turnover, and decreased tumor formation in mice. *J Invest Dermatol*, 2004, 123(5): 973-981.
- 76 Smith PG, Garcia R, Kogerman L. Strain reorganizes focal adhesions and cytoskeleton in cultured airway smooth muscle cells. *Exp Cell Res*, 1997, 232(1): 127-136.
- 77 Russell D, Andrews PD, James J, et al. Mechanical stress induces profound remodelling of keratin filaments and cell junctions in epidermolysis bullosa simplex keratinocytes. *J Cell Sci*, 2004, 117(Pt 22): 5233-5243.
- 78 Vasioukhin V, Bowers E, Bauer C, et al. Desmoplakin is essential in epidermal sheet formation. *Nat Cell Biol*, 2001, 3(12): 1076-1085.
- 79 Windoffer R, Kölsch A, Wöl S, et al. Focal adhesions are hotspots for keratin filament precursor formation. *J Cell Biol*, 2006, 173(3): 341-348.
- 80 Arany PR, Flanders KC, Kobayashi T, et al. Smad3 deficiency alters key structural elements of the extracellular matrix and mechanotransduction of wound closure. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(24): 9250-9255.
- 81 Nelson CM, Bissell MJ. Of extracellular matrix, scaffolds, and signaling: tissue architecture regulates development, homeostasis, and cancer. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2006, 22(3): 287-309.
- 82 Discher DE, Janmey P, Wang YL. Tissue cells feel and respond to the stiffness of their substrate. *Science*, 2005, 310(5751): 1139-1143.
- 83 Paszek MJ, Zahir N, Johnson KR, et al. Tensional homeostasis and the malignant phenotype. *Cancer Cell*, 2005, 8(3): 241-254.
- 84 Engler AJ, Griffin MA, Sen S, et al. Myotubes differentiate optimally on substrates with tissue-like stiffness: pathological implications for soft or stiff microenvironments. *J Cell Biol*, 2004, 166(6): 877-887.
- 85 Engler AJ, Sen S, Sweeney HL, et al. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell*, 2006, 126(4): 677-689.
- 86 Wilson E, Sudhir K, Ives HE. Mechanical strain of rat vascular smooth muscle cells is sensed by specific extracellular matrix/integrin interactions. *J Clin Invest*, 1995, 96(5): 2364-2372.
- 87 Nicolas A, Safran SA. Limitation of cell adhesion by the elasticity of the extracellular matrix.

Biophys J, 2006, 91(1): 61-73.

88 Yuan Y, Verma R. Measuring microelastic properties of stratum corneum. *Colloids SurfB Biointerfaces*, 2006, 48(1): 6-12.

89 Takei T, Mills I, Arai K, et al. Molecular basis for tissue expansion: clinical implications for the surgeon. *Plast Reconstr Surg*, 1998, 102(1): 247-258.